

QuEChERS法提取净化结合气-质联法快速检测茶叶中农药残留

叶江雷^{1,2}, 金贵娥², 吴云辉¹, 郑文慧³

(1. 厦门海洋职业技术学院, 福建 厦门 361102; 2. 厦门大学 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 厦门茶叶进出口有限公司, 福建 厦门 361006)

摘要: 建立分散固相萃取(QuEChERS)法提取净化结合气-质联用(GC-MS)技术检测茶叶中47种农药残留的方法。提取剂(2 mL乙腈、40mg NaCl)与干燥茶样(0.5g、20目)旋涡混合(2min)后离心(5000r/min、5min), 吸取上清液(1mL)与净化剂(25mg PSA、7.5mg GCB、150mg MgSO₄、40mg NaCl)旋涡混合(2min)后离心(5000r/min、5min), 上清液直接注入气相色谱-质谱联用仪检测。通过对样品的颗粒度、数量, 提取剂种类及数量, 混合(旋涡)方式, 净化剂数量等进行优化, 方法的加标回收率在81%~102.2%之间, 精密度在6.5%~18.3%之间, 线性范围在0.00195~1.0mg/kg之间($R^2 > 0.97$), 检测限在0.0009~0.0214mg/kg之间, 定量限在0.0029~0.0712mg/kg之间, 基本符合日本和欧盟对农残“一律标准”的要求。

关键词: 茶叶; 农药残留; 分散固相萃取; 气相色谱-质谱法

Rapid Determination of Pesticide Residues in Tea by QuEChERS and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

YE Jiang-lei^{1,2}, JIN Gui-e², WU Yun-hui¹, ZHENG Wen-hui³

(1. Xiamen Ocean Vocational College, Xiamen 361102, China; 2. State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. Xiamen Tea Import and Export Co. Ltd., Xiamen 361006, China)

Abstract: A method to determine 47 pesticide residues in tea using QuEChERS and GC-MS was established. For the extraction of pesticide residues, dry samples were vortex-mixed with 40 mg of NaCl dissolved in 2 mL of MeCN and centrifuged (5000 r/min for 5 min). Then 1 mL aliquot of the supernatant was taken and vortex-mixed for 2 min after the addition of 25 mg of PSA, 7.5 mg of GCB, 150 mg of MgSO₄ and 40 mg of NaCl and centrifuged (5000 r/min for 5 min). The resulting supernatant was injected in to a GC-MS for analysis of pesticide residues. Under the optimized conditions of particle size and amount of samples, extraction solvent type and volume and mixing method and purificant, the recovery of the method for spiked samples ranged from 81% to 102.2%, and precision from 6.5% to 18.3% (RSD). The linear range was 0.00195 - 1.0 mg/kg ($R^2 > 0.97$), limit of detection (LOD) 0.0009 - 0.0214 mg/kg, and limit of quantitation (LOQ) 0.0029 - 0.0712 mg/kg. This method could substantially meet the “Uniform Limits” of Japan and the EU for analysis of pesticide residues.

Key words: tea; pesticide residue; dispersive solid phase extraction; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: O657.71

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)12-0265-07

doi:10.7506/spkx1002-6630-201312055

茶叶是我国的重要经济作物和出口产品, 由于欧盟和日本等输入地设置了严格的检出限量, 我国茶叶出口遭遇了严重的绿色壁垒。农药残留检测的关键在于前处理。分散固相萃取(dispersive solid phase extraction)是近年来发展起来的一种快速(quick)、简单(easy)、廉价(cheap)、高效(effective)、耐用(rugged)、安全

(safe)的多种类多残留农残检测前处理方法, 又简称QuEChERS^[1-2]。理想的QuEChERS过程是分散于提取溶液中的净化吸附剂吸附干扰基质而不吸附待测目标化合物^[1,3]。主要的净化吸附剂为N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)和ODS C₁₈, 根据样品的性质不同还可选择石墨化碳黑(graphitized carbon blacks, GCB)、

收稿日期: 2012-04-11

基金项目: 厦门市科技计划创新项目(3502Z20103045)

作者简介: 叶江雷(1964—), 男, 博士, 研究方向为海洋化学与分析化学。E-mail: yejianglei@126.com

氮丙基粉、氧化铝粉等单独或配合使用以改善净化效果^[2]。QuEChERS法的应用主要集中于蔬菜水果^[4-6]，食品^[2,7-8]、土壤^[9]、中药^[10]和水^[9]中，而应用于茶叶中农药残留检测的报道较少^[11]。

本实验在茶叶出口日常检验项目的基础上，剔除在质谱上灵敏度较差的项目，并增加茶叶进出口贸易中特别关注的项目，最终确定47种农药品种作为目标物。以茶叶为对象，对QuEChERS法的提取溶剂，样品规模和颗粒度，溶剂与样品之间的比例和混合方式，NaCl、PSA、GCB数量等方面进行优化；拟简化加水浸润^[11]过程和解决净化液略带颜色的问题^[12]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

正己烷、丙酮、乙腈均为农残级 美国Tedia公司；分散固相萃取填料(MgSO₄、PSA、GCB、NaCl) 美国Agilent公司；各种农药标准品 德国Dr. Ehrenstorfer公司、美国Sigma公司。

准确称取适量的各种农药标准品固体，配制成1000mg/kg的标准储备液；再以储备液配制各种农药的混合标准中间液(2mg/kg)，其他混合标准工作液以此为基础进一步稀释配制，溶剂均为乙腈。

1.2 仪器与设备

7890GC-5975MSD气相色谱-质谱仪(配7683自动进样器) 美国Agilent 公司；TLD-5台式离心机 上海安亭科学仪器厂；KQ2200B超声波清洗器 昆山超声仪器公司；QL-861旋涡振荡器 海门市其林贝尔仪器公司。

1.3 方法

1.3.1 样品预处理

干燥的茶叶样品经粉碎机磨碎，过20目筛备用。准确称取0.50g茶样于10mL涂有聚四氟乙烯内层的具塞离心管中，加入2.0mL提取剂乙腈后再加入40mg NaCl，旋涡振荡2min，离心5min(5000r/min)；取1.0mL上清液(相当于0.25g干茶叶样)，移入2mL涂有聚四氟乙烯内层的具塞离心管(内装25mg PSA、7.5mg GCB、150mg MgSO₄、40mg NaCl)中，旋涡振荡2min，离心5min(5000r/min)；净化后的上清液供气相色谱-质谱联用仪(gas chromatograph-mass spectrometer-computer, GC-MS)检测。

1.3.2 色谱条件

色谱柱：J&W DB-5石英毛细柱(30m × 0.25mm，0.25μm)；升温程序：50 保持1min，以25 /min升至125，再以10 /min升温至300 保持10min；载气(He)恒压57kPa；进样量5μL；不分流进样，1min后打开分流阀。

1.3.3 质谱条件

电子电离源(electron ionization, EI)；电子能量

70eV；离子源温度150 ；传输线温度280 ；质量扫描范围 m/z 50 ~ 450。每种农药分别选择1个定量离子，3个定性离子，按照出峰顺序，分时段分别检测(表1)；各农药品种在色谱中的保留时间、定量离子和定性离子见表2。图1为在上述条件下的总离子流图(total ion chromatogram, TIC)和选择离子检测图(selected ion monitoring, SIM)。

表1 SIM离子分组
Table 1 Ion groups for SIM

实验组	开始时间/min	驻留时间/ms	离子(m/z)
1	0.00	25	121、136、91、77
2	10.46	25	75、121、260、97
3	11.43	25	181、219、183、217
4	11.75	25	219、181、183、217
5	12.11	25	181、163、165、209
6	12.32	25	179、137、152、199、188、189、160、94
7	12.65	25	181、219、183、217
8	13.10	25	146、162、59、223、286、288、125、290
9	13.51	25	263、109、125、79
10	13.77	25	79、130、132、109、277、125、109、260
11	14.26	25	197、199、314、97、278、125、109、169
12	14.59	25	136、121、120、110
13	14.91	25	367、369、213、351、274、125、121、93、146、157、156、118
14	15.55	25	145、85、93、125
15	15.93	25	241、195、239、237
16	16.31	25	246、318、316、248、105、106、104、172
17	16.72	25	59、247、249、408
18	17.04	25	195、237、207、241、231、153、97、125、235、237、165、236
19	17.38	25	235、237、165、236
20	17.52	25	161、162、172、77
21	17.83	25	272、274、229、237、235、237、165、236
22	18.46	25	187、314、189、244
23	18.91	25	181、165、166、182、157、169、141、185、97、181、125、265
24	19.40	25	159、111、229、227
25	19.82	25	181、197、208、209
26	20.48	25	183、163、165、184
27	21.43	25	181、163、165、77、209、199、157、184
28	22.54	25	167、125、181、152、169
29	23.56	25	181、253、251、255

表2 农药名称、保留时间、定量、定性离子

Table 2 Retention time and characteristic ions of pesticide residues

序号	农药	保留时间/min	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)		
				q1(ratio)	q2(ratio)	q3(ratio)
1	异丙威(isoprocab)	9.745	121	136(43.2)	91(13.6)	77(10)
2	甲拌磷(phorate)	11.497	75	121(47.8)	260(31.1)	97(23.8)
3	α -六六六(α -BHC)	11.613	181	219(95.9)	183(95.3)	217(75.4)
4	β -六六六(β -BHC)	12.097	219	181(99.9)	183(95.3)	217(78.9)
5	γ -六六六(γ -BHC)	12.216	181	163(93.7)	165(78.5)	209(9)
6	二嗪磷(diazinon)	12.475	179	137(95.6)	152(64.5)	199(58)
7	δ -六六六(δ -BHC)	12.853	181	219(97.8)	183(96.1)	217(77.7)
8	乙草胺(acetochlor)	13.410	146	162(85.8)	59(84.2)	223(76)
9	甲基毒死蜱(chlorpyrifos methyl)	13.443	286	288(70.4)	125(47.9)	290(15.9)
10	甲基对硫磷(methyl parathion)	13.570	263	109(94.9)	125(80.1)	79(23.2)
11	八氯二丙醚(S421)	13.963	79	130(74.513)	132(71.284)	109(25.12)
12	杀螟硫磷(fenitrothion)	14.062	277	125(96.5)	109(77.2)	260(52.8)

续表2

序号	农药	保留时间/min	定量离子(<i>m/z</i>)	定性离子(<i>m/z</i>)		
				q1(ratio)	q2(ratio)	q3(ratio)
13	毒死蜱(chlorpyrifos)	14.371	197	199(95.9)	314(70.7)	97(70.6)
14	倍硫磷(fenthion)	14.461	278	125(23.3)	109(18.1)	169(17.3)
15	水胺硫磷(isocarbophos)	14.607	136	121(67.5)	120(45.1)	110(36.6)
16	氟虫腈(fipronil)	15.064	367	369(69.7)	213(23.4)	351(16.3)
17	稻丰散(phenthoate)	15.330	274	125(46.4)	121(44.3)	93(36.5)
18	喹硫磷(quinalphos)	15.349	146	157(64.2)	156(38.1)	118(33.2)
19	杀扑磷(methidathion)	15.627	145	85(58.7)	93(16)	125(15.2)
20	α -硫丹(α -endosulfan)	15.971	241	195(99.3)	239(91.2)	237(90.1)
21	p,p' -DDE	16.344	246	318(86.2)	316(67.3)	248(65.6)
22	噻嗪酮(buprofezin)	16.474	105	106(48)	104(46.8)	172(40.2)
23	溴虫腈(chlorfenvapir)	16.613	59	247(7.8)	249(5.9)	408(4.9)
24	β -硫丹(β -endosulfan)	17.087	195	237(85.1)	207(81)	241(77.1)
25	乙硫磷(ethion)	17.125	231	153(51.4)	97(41.9)	125(34.7)
26	p,p' -DDD	17.139	235	237(65.3)	165(40.9)	236(14.5)
27	o,p' -DDT	17.191	235	237(65.8)	165(35.9)	236(14.6)
28	三唑磷(triazophos)	17.400	161	162(66.9)	172(40.9)	77(39.1)
29	硫丹硫酸盐(endosulfan sulfate)	17.789	272	274(83.5)	229(60.9)	237(52.5)
30	p,p' -DDT	17.851	235	237(65.5)	165(35.4)	236(14.7)
31	异菌脲(iprodione)	18.541	187	314(69.7)	189(65.8)	244(65.3)
32	联苯菊酯(bifenthrin)	18.708	181	165(25.9)	166(25.6)	182(16.6)
33	苯硫磷(EPN)	18.750	157	169(59.1)	141(36.2)	185(31.2)
34	甲氧菊酯(fenprothrin)	18.898	97	181(80.1)	125(42.9)	265(33.1)
35	三氯杀螨砜(tetradiifon)	19.267	159	111(71.9)	229(59.7)	227(58.8)
36	氯氰菊酯(cyhalothrin)	19.503	181	197(80.5)	208(51.6)	209(47)
37	氯菊酯(permethrin)	20.504	183	163(19.4)	165(16.7)	184(15.8)
38	氯菊酯(permethrin)	20.630	183	163(19.5)	165(16.8)	184(15.9)
39	氯氰菊酯(cypermethrin)	21.359	181	163(88.8)	165(76.2)	77(33.9)
40	氯氰菊酯(cypermethrin)	21.461	181	163(93.7)	165(78.5)	209(37.7)
41	氟氰戊菊酯(flucythrinate)	21.523	199	157(64.5)	184(61.7)	181(37.8)
42	氯氰菊酯(cypermethrin)	21.516	163	181(80.7)	165(65.9)	209(45.1)
43	氯氰菊酯(cypermethrin)	21.555	163	181(81)	165(66)	209(46.2)
44	氟氰戊菊酯(flucythrinate)	21.719	199	157(65.9)	184(38.1)	181(36.5)
45	氟戊菊酯(fenvalerate)	22.317	167	125(97.2)	181(62.2)	152(54.5)
46	氟戊菊酯(fenvalerate)	22.553	167	125(99.9)	181(62)	169(54.2)
47	溴氰菊酯(deltamethrin)	23.237	181	253(66.9)	251(42.9)	255(32.6)

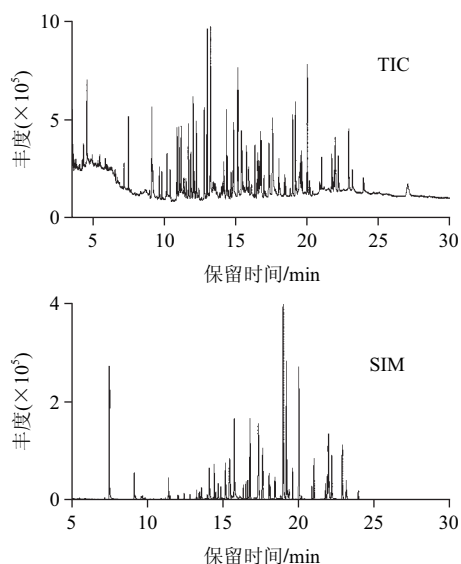


图1 农药混合标准溶液气相色谱-质谱总离子流图
Fig.1 GC-MS chromatograms of pesticide standards

2 结果与分析

2.1 提取过程

2.1.1 提取溶剂的选择

由于被分析目标物的结构差异大和极性范围广,如何将样品中微量或痕量的农药目标物提取至有机溶剂中是多种类多残留分析(multi-residue methods, MRMs)法是必须解决的首要问题。蔬菜和水果等样品的含水量接近75%^[1],对于含水量低或干燥样品通常以适量的高纯水先行浸泡以提高样品的浸润性和减少极性干扰物^[13];使用含0.1%冰乙酸的极性和非极性的混合溶剂(丙酮-石油醚(1:1, *V/V*))可增强提取溶剂的穿透力和提取效果^[14];对于含水量较高的样品,适当地降低提取剂的极性(如以正己烷饱和的乙腈^[15]),既能提高提取剂的浸润作用,也能减少提取液中的含水量,减轻后续净化过程的除水压力^[1]。由于1)挥发性低且提取的干扰基质少,2)添加NaCl可以改善非极性农药的回收率,3)适当地调整乙腈的酸度(1% HAc)可以将对碱敏感农药的提取回收率提高至满意的程度(>80%)且没有明显的基质效应^[16],因此,在适当地防护下乙腈是MRMs法最常用的提取溶剂。由于选定的目标化合物不含对碱敏感的品种,本实验参照农业部标准NY/T 761—2008《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》^[17]方法选用纯乙腈为提取溶剂。

2.1.2 样品的规模、颗粒度与提取溶剂之间的比例

实验小型化的关键是必须具有足够的代表性。在相同条件下,减小样品的颗粒度和增加均匀度可以在更小的样品规模下开展检测工作,从而节省时间和资源;样品颗粒太小对离心分离和上清液的吸取造成困难。通过探索,确定干燥茶叶样的颗粒度为过20目筛较为适宜。

固相萃取(solid phase extraction, SPE)法的样品规模一般为10g^[18-19],通常用1mL提取剂浸提1g含水量(80%~90%)较高的水果和蔬菜样品^[1],如换算为干燥样品则浸提量约为0.25g/mL。对于一定量的样品而言:1)经多次提取后合并浓缩,可提高浸提量(1~4g/mL干样^[20]),但在改善方法检出限量的同时增加了干扰物的数量;2)增加提取剂的用量,降低浸提量,可提高提取的效率;当浸提量低至0.1~0.2g/mL时提取效率增加不明显^[21]。茶叶是干燥、色素等基质干扰较为严重的样品,本实验选择浸提量为0.25g/mL的干燥茶叶,即2.0mL的乙腈提取0.50g的干燥茶叶样。

2.1.3 提取溶剂与样品之间的混合方式

QuEChERS法中样品与提取溶液(乙腈)、无水MgSO₄是否充分接触是必须控制的关键点之一。旋涡振荡相较于人工振荡具有更好的混合效果和重现性,也可超声振荡^[22]加以辅助。

2.2 净化过程

QuEChERS净化的实质在于将各种净化剂直接分散于提取液中,尽可能多地吸附干扰基质而将待检测的目标化合物保留在溶液中。本实验使用的净化剂为PSA和GCB。

2.2.1 PSA的用量

PSA对有机酸、色素、糖和脂肪酸等干扰物质具有较强的吸附能力^[1],净化每克样品所需PSA的用量与提取液中干扰基质的性质有关^[22]:如:1) 动物性样品的用量在300(蜂蜜^[23])、200(鲜牛奶^[24])、250~100(动物组织^[25])、50(全血样^[26])和25(鸡蛋^[27])mg之间变化;2) 新鲜的植物性样品用量在50mg(水果类婴儿食品^[28])、多水、多糖、酸性蔬菜^[29]和果蔬^[30]25mg(卷心菜、萝卜^[31]和香蕉^[32])之间变化,干燥植物性样品的用量在50(茶叶^[14]、枸杞^[33])、25(稻米^[34])、20(小麦^[35])、12.5(大麦^[13])mg之间变化,大豆、谷物^[36]则无需净化可直接进样分析;3) 较为特别的是新鲜的辣根用量高达100~250mg,但样品经过微波处理后,破坏了其中含硫的活性物质,用量可降至10mg^[15]。

为了考察PSA用量对方法回收率的影响,在保持其他净化剂数量不变基础上,改变PSA的数量分别为10、15、20、25、30mg,其他实验过程均与1.3节相同。

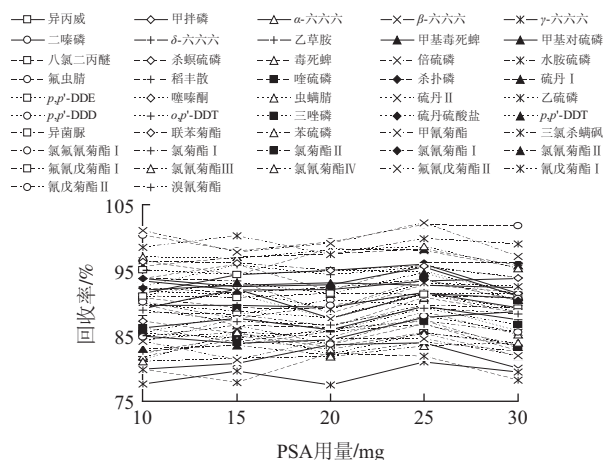


图2 PSA用量对回收率的影响

Fig.2 Effect of PSA concentration on the recoveries of pesticides

由图2可知,各种农药的回收率在75%~105%之间,基本符合农药检测方法对回收率的要求;各种农药的回收率与PSA用量之间的相关性不大。考虑茶叶样品的复杂性,参照原始QuEChERS方法的用量,将PSA的用量定为每1mL提取液使用25mg PSA净化。

2.2.2 GCB的用量

GCB主要用于去除色素,但对部分农药组分具有一定的保留^[37],其用量需在去除色素和保证回收率之间进行优化选择。在保持其他净化剂数量不变基础上,GCB

的数量分别在7.5、10、16、25mg之间变化,其他实验过程均与1.3节相同。

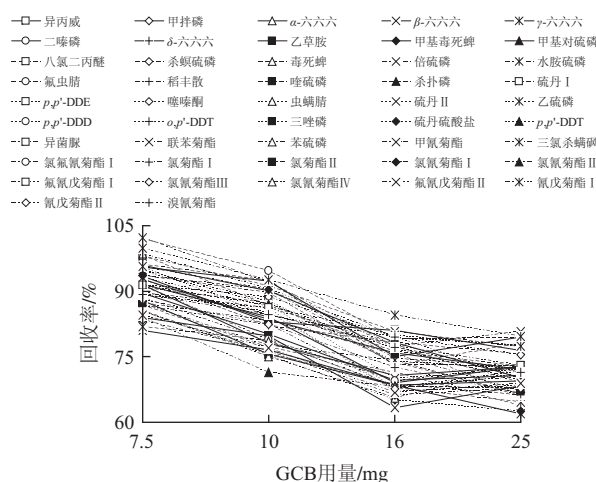


图3 GCB用量对回收率的影响

Fig.3 Effect of GCB concentration on the recoveries of pesticides

由图3可知,各种农药的回收率约在60%~105%之间;随着GCB数量的增加,各种农药的回收率逐步降低,其中仅当GCB的用量为7.5mg时,各农药品种的回收率在81%~102.2%之间,基本符合农残检测的要求。7.5mg的GCB与25mg的PSA配合基本可以去除茶叶提取液中的色素,对于色素较重的样品仍有部分色素存在;当GCB的质量分别为10、16、25mg时,可以完全去除提取液中的色素。以回收率为首要考虑因素,GCB的用量定为每1mL提取液使用7.5mg GCB。

2.2.3 MgSO₄与NaCl的用量

含水性率高的样品通常以MgSO₄去除水分。1) 在水中的溶解度(25℃时337g/L)大且与水的结合后生成MgSO₄·7H₂O,既可除去样品中的水分又可提高有机层中农药的分配数量,提高极性农药的回收率;2) 水合过程是一个强烈的放热过程,有利于非极性农药的提取;3) 用量不宜过多(易形成结块而不利于旋涡振荡^[1])。由于茶叶是无水干燥的样品,在提取阶段无需添加MgSO₄除水;在净化阶段MgSO₄的用量为每1mL提取液使用150mg,以确保净化液不带有水分进入色谱柱。

在多残留多种类农残检测的提取与分配阶段,常以盐析效应提高极性化合物的回收率。盐析效应受溶剂性质的影响较大。当以乙腈作为提取剂时,无机盐MgSO₄和NaCl的共同作用有利于提高极性农药的回收率^[38-39];随着NaCl用量的增加,乙腈相中水分越少,两相分离的越彻底;但过多的NaCl不利于回收率的提高^[1]。为了考察NaCl的用量对回收率的影响,选取几种典型的农药品种作为研究对象,在预处理条件的基础上在提取阶段和净化阶段分别或/和添加10、20、30、40、50mg的NaCl,

其他实验过程均与1.3节相同。结果如图4所示,图中横坐标为分别在提取和净化阶段加入的NaCl用量。

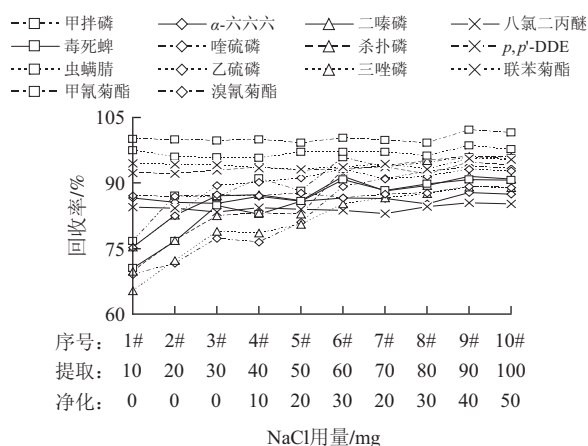


图4 NaCl用量对回收率的影响

Fig.4 Effect of NaCl concentration on the recoveries of pesticides

由图4可知,随着NaCl用量的变化, α -六六六、八氯二丙醚、 p,p' -DDE、联苯菊酯、甲氰菊酯、溴氰菊酯等农药品种的回收率大约在80%~105%的范围内波动,变化不明显。对于甲拌磷、二嗪磷、毒死蜱、噻硫磷、杀扑磷、乙硫磷、三唑磷等农药品种,随着添加NaCl用量的变化,回收率的变化明显:1)提取阶段添加NaCl的回收率高于净化阶段,NaCl数量在提取阶段对回收率的影响更大;2)在提取和净化阶段共同添加NaCl的回收率高于仅在提取或净化阶段添加;3)随着添加NaCl用量的增加,提取和净化阶段的回收率均有所增加;4)所有农药品种分别在提取和净化阶段共同添加NaCl用量达到40mg以上时,回收率变化不明显。综上,在提取和净化阶段添加NaCl均为40mg。

2.2.4 基质效应

在农药残留的色谱分析中,基质对信号的影响既有抑制作用^[40]也有增强作用^[30]。本实验也尝试以多羟基化合物(3-乙氧基-1,2-丙二醇和山梨醇^[30])作为分析保护剂,但效果并不明显。采用基质匹配标准溶液(即以空白的净化液配制相应的标准溶液制作校正曲线)进行定量分析和计算。

2.3 线性方程、检出限

取10支10mL涂有聚四氟乙烯内层的具塞离心管分别编为1#、2#、3#、.....10#号。在1#离心管中加2mL混合标准中间液(2mg/kg)和2mL乙腈混匀;从1#中取2mL溶液与2mL乙腈加至2#离心管中混匀;以此类推,至10#离心管。分别称取0.50g不含目标农药残留的空白茶叶粉碎样于上述10支离心管中,混匀并浸泡过夜,将溶剂挥发后作为农药添加混合标准的茶叶样。对上述茶叶样进行预处理,此时净化液中添加的各种农药品种的含量分别为1.0、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156、

0.0078、0.0039、0.00195mg/kg,经GC-MS分析后,以标准液的农药含量为横坐标、相应的农药组分所对应的峰面积为纵坐标,绘制校正曲线;以3倍信噪比确定每种农药组分的检出限(limit of detection, LOD)、以10倍信噪比确定定量检出限(limit of quantification, LOQ)。

表3 方法的回收率、相对标准偏差、校正曲线和检出限
Table 3 Recoveries, RSD%, calibration curves, LOD, and LOQ of the method

序号	农药	回收率/%	RSD/%	校正曲线线性方程	线性范围/(mg/kg)	R^2	LOD/(mg/kg)	LOQ/(mg/kg)
1	异丙威	93.4	17.1	$y=20.39 \times 10^5 x + 0.41 \times 10^3$	0.008~1	0.9920	0.0115	0.0384
2	甲拌磷	95.9	8.3	$y=25.41 \times 10^5 x + 0.09 \times 10^3$	0.008~1	0.9984	0.0061	0.0204
3	α -六六六	87.8	13.1	$y=19.10 \times 10^5 x + 0.20 \times 10^3$	0.008~1	0.9974	0.0049	0.0164
4	β -六六六	83.9	14.8	$y=25.01 \times 10^5 x + 0.04 \times 10^3$	0.008~1	0.9989	0.0065	0.0218
5	γ -六六六	81.0	13.2	$y=22.74 \times 10^5 x + 0.23 \times 10^3$	0.008~1	0.9963	0.005	0.0167
6	二嗪磷	91.5	9.8	$y=16.02 \times 10^5 x + 0.33 \times 10^3$	0.008~1	0.9946	0.0055	0.0183
7	δ -六六六	91.6	7.1	$y=27.99 \times 10^5 x + 0.02 \times 10^3$	0.008~1	0.9988	0.0025	0.0083
8	乙草胺	89.5	9.1	$y=18.98 \times 10^5 x + 0.51 \times 10^3$	0.008~1	0.9948	0.0045	0.0149
9	甲基毒死蜱	92.7	12.4	$y=30.19 \times 10^5 x + 0.72 \times 10^3$	0.004~1	0.9969	0.0066	0.022
10	甲基对硫磷	95.5	14.4	$y=30.70 \times 10^5 x + 0.03 \times 10^3$	0.008~1	0.9992	0.0041	0.0138
11	八氯二丙醚	85.5	11.5	$y=10.99 \times 10^5 x + 0.73 \times 10^3$	0.004~1	0.9974	0.0041	0.0136
12	杀螟硫磷	86.8	15.8	$y=23.70 \times 10^5 x + 0.08 \times 10^3$	0.004~1	0.9945	0.0114	0.0379
13	毒死蜱	90.8	9.8	$y=31.33 \times 10^5 x + 0.35 \times 10^3$	0.004~1	0.9959	0.0053	0.0176
14	倍硫磷	98	8.3	$y=35.31 \times 10^5 x + 0.08 \times 10^3$	0.008~1	0.9983	0.004	0.0133
15	水胺硫磷	81.9	13.7	$y=15.45 \times 10^5 x + 0.27 \times 10^3$	0.002~1	0.9872	0.0035	0.0118
16	氟虫腈	101.9	12.6	$y=10.53 \times 10^5 x + 0.63 \times 10^3$	0.008~1	0.9965	0.0081	0.027
17	稻丰散	92.8	9.4	$y=39.91 \times 10^5 x + 0.15 \times 10^3$	0.008~1	0.9991	0.0119	0.0396
18	噻硫磷	93.6	10.6	$y=63.97 \times 10^5 x + 0.99 \times 10^3$	0.008~1	0.9983	0.0031	0.0104
19	杀扑磷	96.1	7.9	$y=20.79 \times 10^5 x + 0.85 \times 10^3$	0.004~1	0.9926	0.002	0.0065
20	α -硫丹	98.2	12.3	$y=9.57 \times 10^5 x + 0.11 \times 10^3$	0.008~1	0.9947	0.006	0.02
21	p,p' -DDE	94.8	9.2	$y=42.37 \times 10^5 x + 0.32 \times 10^3$	0.008~1	0.9980	0.0131	0.0435
22	噻嗪酮	91.5	14.7	$y=28.06 \times 10^5 x + 0.18 \times 10^3$	0.008~1	0.9957	0.0029	0.0098
23	溴虫腈	98.6	8.5	$y=34.99 \times 10^5 x + 1.80 \times 10^3$	0.008~1	0.9983	0.0045	0.0148
24	β -硫丹	91.3	10.4	$y=1.16 \times 10^5 x + 0.07 \times 10^3$	0.008~1	0.9870	0.0036	0.0119
25	乙硫磷	93.1	7.2	$y=77.61 \times 10^5 x + 2.70 \times 10^3$	0.008~1	0.9890	0.0107	0.0358
26	p,p' -DDD	89.6	14.6	$y=36.21 \times 10^5 x + 1.18 \times 10^3$	0.008~1	0.9979	0.0016	0.0054
27	o,p' -DDT	95.5	13.3	$y=103.26 \times 10^5 x + 0.31 \times 10^3$	0.008~1	0.9986	0.0035	0.0115
28	三唑磷	89.1	9.3	$y=5.85 \times 10^5 x + 0.04 \times 10^3$	0.004~1	0.9858	0.0012	0.004
29	硫丹硫酸盐	85.4	12.4	$y=20.65 \times 10^5 x + 0.83 \times 10^3$	0.008~1	0.9861	0.0214	0.0712
30	p,p' -DDT	94.6	12.9	$y=14.46 \times 10^5 x + 0.05 \times 10^3$	0.008~1	0.9962	0.0061	0.0202
31	异菌脲	89.7	10.5	$y=10.84 \times 10^5 x + 0.12 \times 10^3$	0.008~1	0.9986	0.0086	0.0288
32	联苯菊酯	95.6	14.2	$y=78.42 \times 10^5 x + 0.44 \times 10^3$	0.004~1	0.9957	0.0115	0.0384
33	苯硫磷	85.3	14.6	$y=145.23 \times 10^5 x + 5.16 \times 10^3$	0.008~1	0.9936	0.0016	0.0053
34	甲氰菊酯	102.2	16.4	$y=49.03 \times 10^5 x + 6.29 \times 10^3$	0.004~1	0.9930	0.0009	0.0029
35	三氯杀螨醇	87.2	9.4	$y=41.04 \times 10^5 x + 1.34 \times 10^3$	0.008~1	0.9795	0.0025	0.0085
36	氯氟菊酯	91.2	13.5	$y=27.43 \times 10^5 x + 1.60 \times 10^3$	0.004~1	0.9935	0.003	0.0102
37	氯菊酯	86.7	14.2	$y=23.66 \times 10^5 x + 0.89 \times 10^3$	0.008~1	0.9873	0.0046	0.0152
38	氯菊酯	87.3	14.3	$y=18.74 \times 10^5 x + 0.56 \times 10^3$	0.008~1	0.9918	0.0053	0.0176
39	氯菊酯	93.6	8.7	$y=35.26 \times 10^5 x + 0.79 \times 10^3$	0.016~1	0.9817	0.0067	0.0222
40	氯菊酯	84	14.4	$y=39.13 \times 10^5 x + 0.39 \times 10^3$	0.016~1	0.9703	0.0035	0.0118
41	氯氟戊菊酯	91.3	6.5	$y=14.54 \times 10^5 x + 0.10 \times 10^3$	0.004~1	0.9981	0.0032	0.0106
42	氯菊酯	83.4	15.6	$y=16.74 \times 10^5 x + 1.29 \times 10^3$	0.008~1	0.9887	0.0086	0.0287
43	氯菊酯	88.6	10.7	$y=9.89 \times 10^5 x + 1.13 \times 10^3$	0.008~1	0.9813	0.0075	0.0249
44	氯氟戊菊酯	84.5	12.7	$y=15.36 \times 10^5 x + 0.05 \times 10^3$	0.004~1	0.9932	0.0126	0.0421
45	氟戊菊酯	99.8	11.6	$y=34.87 \times 10^5 x + 1.08 \times 10^3$	0.016~1	0.9944	0.0081	0.0271
46	氟戊菊酯II	88	17.3	$y=16.12 \times 10^5 x + 0.59 \times 10^3$	0.016~1	0.9903	0.0036	0.0119
47	溴菊酯	89.2	18.3	$y=13.35 \times 10^5 x + 0.06 \times 10^3$	0.008~1	0.9962	0.0078	0.0258

从表3可以看出,各种农药在相应的线性范围内均有较好的线性关系($R^2 > 0.97$); LOD在0.0009~0.0214mg/kg之间; LOQ在0.0029~0.0712mg/kg之间,除部分农药品种大于0.01mg/kg外,其他各组分均远小于0.01mg/kg,基本符合日本和欧盟对农残“一律标准”的要求。

2.4 加标回收率和精密度

取6支10mL涂有聚四氟乙烯内层的具塞离心管,分别称取0.50g不含目标农药残留的空白茶叶粉碎样,吸取50 μ L混合标准中间液(2mg/kg)和2.0mL乙腈与茶样混合均匀并浸泡过夜,挥发溶剂后作为农药添加混合标准的茶叶样。对茶叶样进行预处理,此时净化液中添加的各种农药品种的含量相当于0.05mg/kg,经GC-MS分析后计算添加标准的回收率和整个分析过程的相对标准偏差,结果见表3。当添加标准量为0.05mg/kg时,各组分的回收率在81%~102.2%之间,6次平行测定结果的相对标准偏差在6.5%~18.3%之间。

2.5 实际样品的测定

以建立的方法检测从某茶叶公司检测中心选取农药残留较为严重的12个茶叶样品,其中被检测的农药品种的含量(mg/kg)分别为乙草胺(0.1、0.28)、毒死蜱(0.01、0.03)、水胺硫磷(0.05、0.09)、硫丹(0.1、0.3)、*p,p'*-DDE(0.07)、*o,p'*-DDT(0.3)、联苯菊酯(0.5、5)、甲氰菊酯(0.9)、三氯杀螨砒(0.2、1)、氯氰菊酯(0.5、1.5)、氰戊菊酯(0.5、0.9);其中硫丹、氯氰菊酯、氰戊菊酯为各同分异构体含量之和。

3 结 论

建立了茶叶中有机氯、拟除虫菊酯类和有机磷类等47种农药残留的QuEChERS提取净化、GC-MS检测方法。通过对提取(溶剂、样品的颗粒度、样品的规模和与溶剂的比例、NaCl数量、混合方式)和净化(NaCl、PSA、GCB等数量)过程中各影响因素的优化选择,配合在提取和净化两阶段均添加一定数量的NaCl,基本解决了最终上样液略带颜色的问题^[12];改进后的QuEChERS处理法对单一样品的前处理过程可控制在0.5h左右,批量样品时前处理的平均时间还可以进一步缩短;所建立的方法在回收率、精密度和检出限等方面基本符合欧盟和日本对茶叶农残检测的要求。

参考文献:

- [1] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, ŠTAJNBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.
- [2] 刘亚伟,董一威,孙宝利,等. QuEChERS在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 285-289.
- [3] 郑文慧,叶江雷,王秀彬,等. 分散固相萃取法在农药残留检测中应用的进展[J]. 分析仪器, 2011(4): 23-27.
- [4] LEHOTAY S J, KOK A D, HIEMSTRA M, et al. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection[J]. Journal of Aoac International, 2005, 88(2): 595-614.
- [5] 黄鑫,宋莹,张耀海,等. QuEChERS-GC/MS快速检测柑橘中50种农药残留[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 268-273.
- [6] 何进林,张志华. 高效液相色谱法测定水果中吡虫啉农药残留量[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 230-232.
- [7] WILKOWSKA A, BIZIUK M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology[J]. Food Chemistry, 2011, 125(3): 803-812.
- [8] 屠海云,姜荷,李玮. 气相色谱-质谱法测定粮谷中5种除草剂残留[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 217-219.
- [9] LI Yuanbo, DONG Fengshou, LIU Xingang, et al. Simultaneous enantioselective determination of triazole fungicides in soil and water by chiral liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1224: 51-60.
- [10] 王素方,张西安,张东飞,等. 气相色谱法快速测定杜仲叶中有机氯菊酯类农药残留[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 323-326.
- [11] STEINIGER D, LU G, BUTLER J, et al. Determination of multiresidue pesticides in green tea by using a modified QuEChERS extraction and ion-trap gas chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of Aoac International, 2010, 93(4): 1169-1179.
- [12] 叶江雷,金贵娥,庄婉娥,等. 分散固相萃取净化茶叶中20种农药残留量的GC- μ ECD测定[J]. 分析实验室, 2011, 30(10): 115-119.
- [13] DÍEZ C, TRAAG W A, ZOMMER P, et al. Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1131(1/2): 11-23.
- [14] 洪萍,李峰,徐陆妹,等. QuEChERS-气相色谱法快速检测茶叶中拟除虫菊酯农药残留的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(2): 263-265.
- [15] 曹军,黄月芳,王太全,等. 微波处理及QuEChERS-气相色谱法测定辣椒中多类农药残留[J]. 分析实验室, 2009, 28(增刊1): 42-44.
- [16] 刘玉波,樊明涛,梁俊,等. 改进的QuEChERS-GC-ECD法测定苹果中4种拟除虫菊酯农药残留[J]. 西北农业学报, 2009, 18(4): 61-65.
- [17] NY/T 761—2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].
- [18] LEHOTAY S J. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 785(1/2): 289-312.
- [19] ELLER K I, LEHOTAY S J. Evaluation of hydromatrix and magnesium sulfate drying agents for supercritical fluid extraction of multiple pesticides in produce[J]. Analyst, 1997, 122(5): 429-435.
- [20] 宋淑玲,李重九,马晓东. 蔬菜农药多残留分析中基质共提物净化方法的研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(8): 795-799.
- [21] 周艳明,陈柏,田宏哲. 高效液相色谱法测定马铃薯中15种除草剂的残留量[J]. 农药, 2009, 48(10): 749-751.
- [22] 郭伟,刘永,刘宁,等. 超高效液相色谱串联质谱分析牛乳中24种磺胺类药物残留[J]. 分析化学, 2009, 37(11): 1638-1644.
- [23] WALORCZYK S, GNUSOWSKI B. Development and validation of a multi-residue method for the determination of pesticides in honeybees using acetonitrile-based extraction and gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(37): 6522-6531.

- [24] DAGNAC T, GARCIA-CHAO M, PULLEIRO P, et al. Dispersive solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the multi-residue analysis of pesticides in raw bovine milk[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(18): 3702-3709.
- [25] 董静, 宫小明, 张立, 等. QuEChERS-高效液相色谱法同时检测动物组织中的克球酚、地克珠利和磺胺类药物残留量[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(1): 26-28.
- [26] PLÖSSL F, GIERA M, BRACHER F. Multiresidue analytical method using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry to determine pharmaceuticals in whole blood[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1135(1): 19-26.
- [27] AGUILERA-LUIZ M D M, VIDAL J L M, ROMERO-GONZÁLEZ R. Comparison of several extraction techniques for multiclass analysis of veterinary drugs in eggs using ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 661(2): 150-160.
- [28] TOMAS C, JANA H, ONDREJ L, et al. Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit-based baby food using programmed temperature vaporiser injection-low-pressure gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1186(1/2): 281-294.
- [29] KMELLÁRA B, FODORA P, PAREJA L, et al. Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1215(1/2): 37-50.
- [30] 黄宝勇, 潘灿平, 张微, 等. 应用分析保护剂补偿基质效应与气相色谱-质谱快速检测果蔬中农药多残留[J]. *分析测试学报*, 2006, 25(3): 11-16.
- [31] NGUYEN T D, YU J E, LEE D M, et al. A multiresidue method for the determination of 107 pesticides in cabbage and radish using QuEChERS sample preparation method and gas chromatography mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2008, 110(1): 207-213.
- [32] HERNÁNDEZ-BORGES J, CABRERA J C, RODRÍGUEZ-DELGADO M Á, et al. Analysis of pesticide residues in bananas harvested in the Canary Islands (Spain)[J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(1): 313-319.
- [33] 李莉, 江树人, 潘灿平, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱方法快速净化测定枸杞中12种农药残留[J]. *农药学报*, 2006, 8(4): 371-374.
- [34] NGUYEN T D, HAN E M, SEO M S, et al. A multi-residue method for the determination of 203 pesticides in rice paddies using gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 619(1): 67-74.
- [35] 程莉, 董丰收, 刘新刚, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱方法快速测定小麦中的咪鲜胺残留[J]. *农药学报*, 2009, 11(3): 357-361.
- [36] PIZZUTTI I R, DE KOK A, HIEMSTRA M, et al. Method validation and comparison of acetonitrile and acetone extraction for the analysis of 169 pesticides in soya grain by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(21): 4539-4552.
- [37] 宋淑玲, 李重九, 马晓东, 等. 蔬菜中残留农药的石墨化碳黑净化和气相色谱质谱检测方法[J]. *分析化学*, 2008, 8(11): 1526-1530.
- [38] ANDERSSON A, PÅLSHEDEN H. Comparison of the efficiency of different GLC multi-residue methods on crops containing pesticide residues[J]. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 1991, 339(6): 365-367.
- [39] STOUT S J, PETERSON R P, DACUHNA A R, et al. Determination of hydramethylnon residues in grass by liquid chromatography with confirmation by liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Aoac International*, 1995, 78(3): 862-867.
- [40] 李岩, 郑锋, 王明林, 等. 液相色谱-串联质谱法快速筛查测定浓缩果蔬汁中的156种农药残留[J]. *色谱*, 2009, 27(2): 127-137.